

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：72801

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H03989

研究課題名(和文)オートファゴソーム形成場のin vitro再構成と作動機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the function of the pre-autophagosomal structure through in vitro reconstitution

研究代表者

野田 展生(Noda, Nobuo)

公益財団法人微生物化学研究会・微生物化学研究所・部長

研究者番号：40396297

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 34,100,000円

研究成果の概要(和文)：PASはオートファジーの進行に必須な構造体であるが、その実体は長らく不明であった。本研究ではまず出芽酵母におけるPASの性状を解析し、その実体は流動性の高い液滴であることを明らかにした。さらに精製タンパク質を用いた解析により、Atg1複合体が液-液相分離して液滴を形成すること、液滴内ではAtg17がランダムな配向で局在していること、この液滴がPASの構築に働くことを明らかにするとともに、Atg13のリン酸化状態がAtg1複合体の相分離を制御し、それがPASの構築自体を制御していることを明らかにした。さらに液胞膜上に局在するPASを人工膜を用いてin vitro再構成することに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞内の液-液相分離は様々な生命現象への関与が示唆されている新しい概念であるが、それがオートファジーのマシーナリーの制御に働くという今回の発見は、オートファジーの基本的なメカニズム解明に多大な貢献をするばかりでなく、液-液相分離の分野においてもその関与の対象がこれまでの想定以上に大きいことを強く示唆する画期的な成果である。オートファジーは生体の恒常性維持の機構として重要な役割を担い、その異常は神経変性疾患などの重篤な疾病につながるということが知られている。本研究成果は、相分離の制御を通じた全く新しいオートファジー制御剤の開発の可能性を提唱するものであり、今後の応用研究が期待される。

研究成果の概要(英文)：Despite the importance in autophagy, the entity of the PAS has been a long-standing mystery. We showed that the PAS behaves as a liquid droplet with high fluidity in budding yeast. In vitro experiments using purified proteins revealed that the Atg1 complex can undergo liquid-liquid phase separation to form a liquid droplet. Mutations inhibiting phase separation of the Atg1 complex impaired PAS formation in vivo, suggesting that the entity of the PAS is a liquid droplet formed by phase separation of the Atg1 complex. Further in vitro analyses revealed that phospho-regulation of Atg13 by TORC1 and Ptc2 regulate the phase separation of the Atg1 complex, thereby regulating the PAS formation. Finally, using synthetic liposomes and protein droplets, we reconstituted the PAS attached to the vacuole in vitro. These data suggest that the PAS is a liquid droplet formed on the vacuole, which will function as a place for autophagosome formation by concentrating various Atg proteins and membranes.

研究分野：構造生物学

キーワード：液-液相分離 オートファジー Atg1複合体 天然変性タンパク質 高速AFM リン酸化

## 1. 研究開始当初の背景

オートファジーは真核細胞に普遍的に保存された細胞内の主要な分解経路であり、細胞内浄化、発生、分化、細胞死、抗原提示、細胞内に進入した細菌の駆除等、多彩な高等機能を担っている。またオートファジーの異常は神経変性疾患や癌などの重篤な疾病をもたらす。オートファジーでは、細胞質内にオートファゴソームと呼ばれる二重膜構造体を新生することで分解対象を隔離し、リソソーム（酵母では液胞）へと輸送することで分解する。すなわちオートファゴソーム形成過程が分解対象を決定づけることから、その過程を理解することが極めて重要である。出芽酵母をモデル生物とした遺伝学的・細胞生物学的解析により、18種類の主要 Atg 蛋白質がオートファゴソーム形成過程に必須であること、これらほぼすべての Atg 因子が液胞近傍のプレオートファゴソーム構造体 (Pre-autophagosomal structure, PAS) に局在すること、PAS からオートファゴソームが作られることが明らかとなった (Annu Rev Biophys 44, 101, 2015)。すなわち PAS はオートファゴソーム形成場として機能すると考えられる。PAS は酵母でのみ定義された名称であるが、哺乳類においても Atg 蛋白質が集積するオートファゴソーム形成場が存在することから、ここではそれらも含めて PAS と呼ぶ。オートファジーにおける PAS の重要性にも関わらず、PAS がどのような構造体であり、具体的にどのような機能を担うのか、その分子の実体は長らく謎であった。

18種類の主要 Atg 蛋白質は、6つの機能グループに分類されており、これら機能グループは決まったヒエラルキーに基づき PAS へと局在する。6つの機能グループ中で最上流に位置し、PAS の中核をなすと考えられているのが Atg1 複合体で、プロテインキナーゼ Atg1、天然変性蛋白質 Atg13、足場蛋白質 Atg17-29-31 複合体の計5つの主要 Atg 蛋白質からなる。オートファジーは飢餓により強く誘導されるが、これまでの研究により以下の始動モデルが提唱されている (Annu Rev Biophys 44, 101, 2015)。富栄養条件下では栄養センサー TOR キナーゼが活性化した状態であり、Atg13 を直接リン酸化することで Atg1 複合体の形成を阻害し、その結果 PAS 形成およびオートファジーを阻害する。また Atg1 は遊離した状態で存在し、そのキナーゼ活性は低く保たれている。一方飢餓になり TOR キナーゼの活性が抑制されると、Atg13 は細胞内ホスファターゼにより速やかに脱リン酸化され、5つの因子からなる Atg1 複合体を形成する。Atg1 複合体が数十コピー集まって PAS の核となり、さらに下流の Atg 蛋白質群が集積することで PAS が完成する。この過程で Atg1 のキナーゼ活性が上昇し、オートファゴソーム形成が開始する。PAS は栄養状態に呼応して速やかに形成と消失を行う過度的な構造体であり、TOR によるリン酸化で消失し Atg1 のキナーゼ活性の阻害により肥大化するなど、PAS の構造状態はリン酸化で絶妙に制御されていると考えられる。

近年、“膜のないオルガネラ” (Membrane-less organelles, MLO) という概念が細胞生物学で注目を集めている (EMBO J 35, 1603, 2016)。通常のオルガネラは脂質膜で細胞質から隔離されているが、細胞質におけるストレス顆粒や核における核小体は、膜構造を持たないにも関わらず周囲と異なる“場”を形成しており、MLO と呼ばれている。MLO はストレスで誘導されるものが多く、特定の生体高分子の貯蔵や、生化学反応場の提供等で重要な役割を担っている。これら MLO の形成メカニズムとして、液-液相分離という熱力学的現象が知られている。液-液相分離とは水と油が混合しても分離するように、溶液が複数の液相に分離する現象であるが、MLO の多くは液-液相分離を介して形成された液滴状の会合体と考えられている。そして液-液相分離の進行には天然変性蛋白質や RNA などの運動性の高い高分子が形成する弱い相互作用が重要な役割を担っている。我々が見出した Atg1 複合体の高次会合体もまた、天然変性蛋白質 Atg13 がその構築に中心的な役割を担っており、さらに飢餓ストレスで誘導されるなど、既知の MLO と多くの共通点を持つことが明らかとなってきた。

## 2. 研究の目的

PAS はオートファジーにおける重要性にもかかわらず、長らく実体のわからない、概念だけが独り歩きした存在のままだった。オートファジー、とりわけオートファゴソーム形成機構を理解するためには、PAS の構造および機能を明らかにすることが極めて重要である。そのためには、*in vitro* において PAS を再構成することが必須と考えられるが、これまでオートファジー分野においてそのような報告は皆無である。最近我々が報告した *in vitro* における Atg1 複合体の高次会合体形成は、PAS の再構成の第一歩となる研究であり、世界的に他のどのグループも着目していなかったブレークスルー的な研究であると考えている。本研究ではそれを足掛かりとして、オートファジー分野ではまだ行われていない液-液相分離という視点からの PAS の研究を推進し、PAS の実体を再構成実験を通して明らかにすることを目的とする。本研究により PAS の実体が初めて明らかとなり、その詳細な構造と機能が解明されることで、オートファジー分野最大の謎と言っているオートファゴソーム形成機構の解明に大きく前進することが期待される。そしてその知見はオートファジーをターゲットとした創薬の基盤となりうるものである。

## 3. 研究の方法

#### (1) タンパク質の調製

各種タグ付きの Atg13、Atg17-Atg29-Atg31 複合体、Ptc2、Vac8 および各種変異体は大腸菌 BL21 株で発現し、各種クロマトグラフィーにより精製した。Atg1 およびその変異体はバキュロウイルス-昆虫細胞発現系 (Sf9 株) を用いて発現した。TORC1 は出芽酵母から精製した。

#### (2) 再構成実験

精製した Atg13 および Atg17-Atg29-Atg31 複合体を Atg1 の有無の条件で混合することで相分離を誘導した。液滴の観察は共焦点レーザー顕微鏡 FV3000 を用いた蛍光観察により行った。蛋白質の蛍光標識は SNAP タグ融合タンパク質に対して各種 SNAP-Surface 蛍光標識試薬を作用させることで行った。巨大単層リポソーム (GUV) は自然膨潤法で調製した。Vac8 の GUV への固定は、システイン反応性の PE MCC を GUV 膜成分として含ませ、それに対して Vac8 をインキュベートすることで行った。GUV へのタンパク質の導入および蛍光顕微鏡観察は、マイクロピペットを用いた単一 GUV 法で行った。

#### (3) 酵母実験

GFP-Atg13 を発現させた酵母を用いて PAS の蛍光顕微鏡観察実験を行った。PAS の融合過程の観察では GAL1 プロモーターを用いることで EGFP-Atg13 の発現量を最適化した。

#### (4) 高速原子間力顕微鏡 (HS-AFM)

蛍光顕微鏡一体型のプローブスキャン型 HS-AFM である PS-NEX を用いて Atg13-Atg17-Atg29-Atg31 複合体液滴の観察を行った。サンプルは 3-aminopropyltriethoxysilane 処理有りとなしのカバーガラス上にのせた。得られたデータに対し高速フーリエ変換バンドパスフィルター処理を行うことで分子の明瞭化を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) PAS は細胞内で液滴として振舞う

出芽酵母を用いて PAS の物理性質の解析を行った。PAS に局在した GFP-Atg13 に対する FRAP 実験を行った結果、消光した蛍光が半分回復する時間が 1.3 秒と迅速であり、GFP-Atg13 は PAS と細胞質を活発に往来していることが明らかとなった (図 1a)。FCS 実験により拡散係数を見積った結果、GFP-Atg13 は細胞質局在と比べて若干劣る程度の高い運動性を PAS において保持していることが明らかとなった (図 1b, c)。

部分 FRAP 実験を行った結果、消光による液滴内の蛍光の不均一性は 0.7 秒以内という短時間に解消したことから、高い内部流動性が確かめられた (図 1d)。酵母を 1,6-hexanediol 処理すると PAS が速やかに解消し、1,6-hexanediol を洗い流すと速やかに PAS が再出現した (図 1e)。ラパマイシン添加後のライブイメージングにより、まず複数の PAS 前駆体が現れ、それが運動しながら互いに衝突、融合を繰り返すことで 1 つの大きな PAS になる様子が観察された (図 1f)。融合過程では 2 つの球状の PAS 前駆体が一旦楕円体状になったのち、速やかに球形になる様子が観察された (図 1g)。2 つの PAS 前駆体の一方が小さくなると同時に他方が大きくなる、オストヴァルト熟成と思われる現象も観察された (図 1h, i)。以上の結果から、PAS は液-液相分離により形成される液滴状の会合体であることが明らかとなった。

#### (2) Atg1 複合体は in vitro で液-液相分離して液滴を形成する

PAS の構築において最上流で機能する Atg1 複合体は、構成因子が IDR に富む傾向になることから (図 2a)、液-液相分離する可能性が示唆された。そこで精製タンパク質を用いて in vitro の解析を進めた結果、Atg1 複合体は液-液相分離し、時間経過とともに液滴のサイズが大きくなった (図 2b)。その過程では球状の液滴同士が融合し、再度球状に変形した (図 2c, d)。形成した液滴には Atg1、Atg13、Atg17 が共局在することが蛍光で確かめられた (図 2e)。我々はこれまでの研究で、Atg13 と Atg17 が異なる 2ヶ所で結合すること、その結果高次会合することを示すと同時に、相互作用の詳細を結晶構造解析で明らかにした (図 2f)。Atg13 と Atg17-Atg29-Atg31 複合体を混合すると Atg1 非存在下でも液-液相分離し、2ヶ所の結合をそれぞれ阻害する変異を導入すると、液-液相分離は顕著に阻害された (図 2g)。すなわち Atg1 複合体の相分離は、Atg13-Atg17 間の多価相互作用によって引き起こされると考えられる。

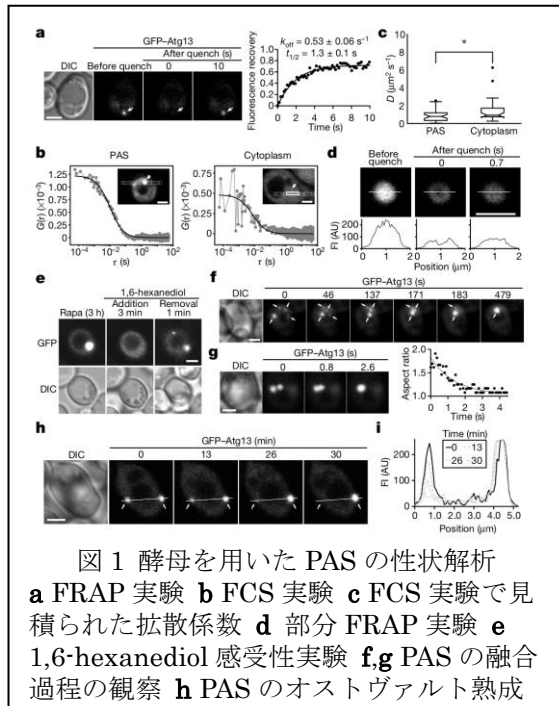
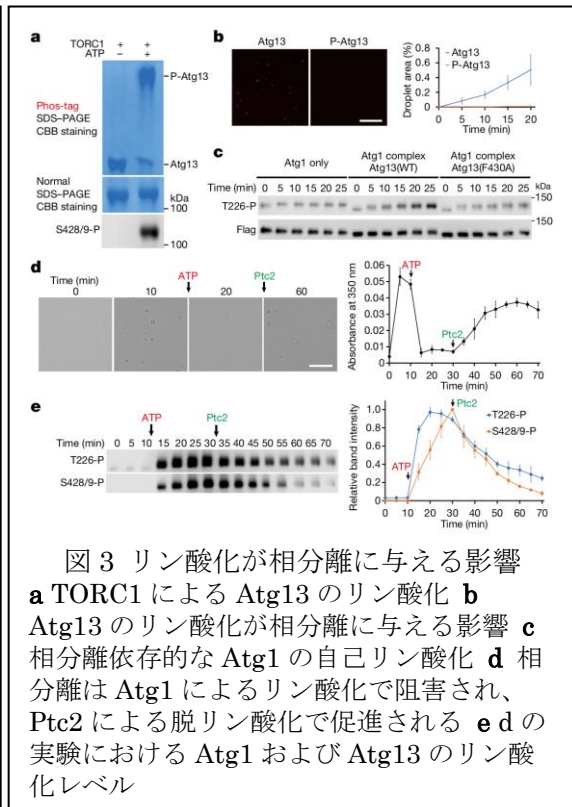
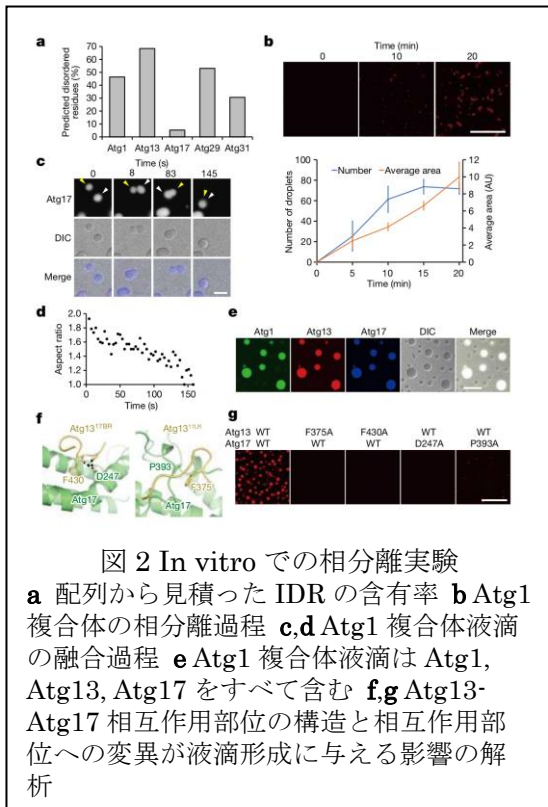


図 1 酵母を用いた PAS の性状解析  
a FRAP 実験 b FCS 実験 c FCS 実験で見積られた拡散係数 d 部分 FRAP 実験 e 1,6-hexanediol 感受性実験 f,g PAS の融合過程の観察 h PAS のオストヴァルト熟成

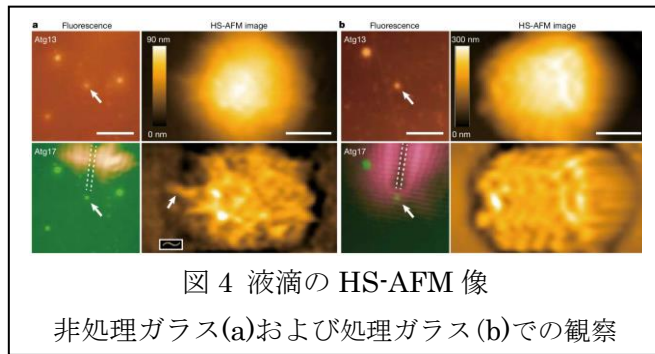


(3) Atg1 複合体の相分離は Atg13 のリン酸化で制御される

オートファジーの始動は Atg13 のリン酸化状態で制御されることが知られていた。すなわち TORC1 や Atg1 による Atg13 のリン酸化は PAS 形成を阻害する方向に、Ptc2 による脱リン酸化は PAS 形成を促進する方向に働く。そこで Atg13 のリン酸化状態が Atg1 複合体の相分離に与える影響を in vitro で解析した。TORC1 を酵母から精製し、ATP とともに Atg13 とインキュベートすると、Atg13 が高度にリン酸化されることが確認された (図 3a)。リン酸化 Atg13 を用いて Atg1 複合体を調製したところ、液滴を形成しないことが分かった (図 3b)。また Atg1 複合体に ATP を添加して Atg1 の自己リン酸化を調べたところ、液滴形成したもののみ自己リン酸化が進むことが分かった (図 3c)。そこで Atg1 複合体液滴に ATP を添加して液滴に与える影響を調べた結果、時間経過とともに Atg13 のリン酸化が進行し、液滴は解消した (図 3d)。その後ホスファターゼである Ptc2 を添加すると、Atg13 の脱リン酸化が進行し、Atg1 複合体液滴が再形成された (図 3e)。以上の結果より、Atg13 のリン酸化状態が Atg1 複合体の液-液相分離を制御しており、それが PAS 形成を制御していることが明らかとなった。

(4) Atg13-Atg17-Atg29-Atg31 複合体液滴の HS-AFM

In vitro で形成させた Atg13-Atg17-Atg29-Atg31 液滴に関して、HS-AFM による構造解析を行った。表面処理をしていないカバーガラス上での観察の結果、液滴内では S 字型をした Atg17 がランダムな配向で運動性を持った状態で存在したことから、規則性のない液体状の会合体であることが確かめられた (図 4a)。その一方、3-aminopropyltriethoxysilane で処理したカバーガラス上で観察した場合、Atg17 は規則的な配置で並び、運動性もほとんどないことが明らかとなった (図 4b)。液滴は一般に時間経過や環境に応じてゲル化、凝集体化 (アミロイド化) することが知られているが、PAS もまた同様に環境などに応じてゲル化、凝集化が進むと考えられる。



(5) PAS の in vitro 再構成実験

酵母では PAS は常に液胞膜上で形成される。液胞膜表在型のタンパク質 Vac8 は Atg13 と直接結合することが報告されていたため、Vac8 欠損が PAS の局在に与える影響を解析した結果、Vac8 欠損により PAS は液胞膜から離れることが明らかになった (図 5a, b)。そこで Vac8 を化学的に固定した GUV を用意し、それを液胞に見立てて液胞膜上の PAS を再構成する実験を行った。Vac8-GUV に対して Atg1 複合体液滴を添加すると、GUV 膜上に液滴が繫留されるのに対し、Vac8 を含

まない GUV に対してはほとんど結合を示さなかった (図 5c, d)。Vac8-GUV への液滴の繫留は Atg1 に依存しない一方 (図 5e)、Atg13 との結合能が減弱した Vac8 変異体を固定した GUV には結合しなかった (図 5f)。GUV 膜上に繫留された液滴は膜上を動き回りながら互いに衝突、融合し、大きな液滴へと変化していった (図 5g, h)。これらの結果は酵母における PAS 形成過程と酷似していたことから、PAS 形成の初期過程を *in vitro* において再構成出来たと考えられる。以上の結果から、PAS は Atg1 複合体が液-液相分離することで形成した液滴がその実体であり、そこに下流の Atg 因子や脂質膜などをリクルートすることでオートファゴソーム形成の場として働くと考えられる。

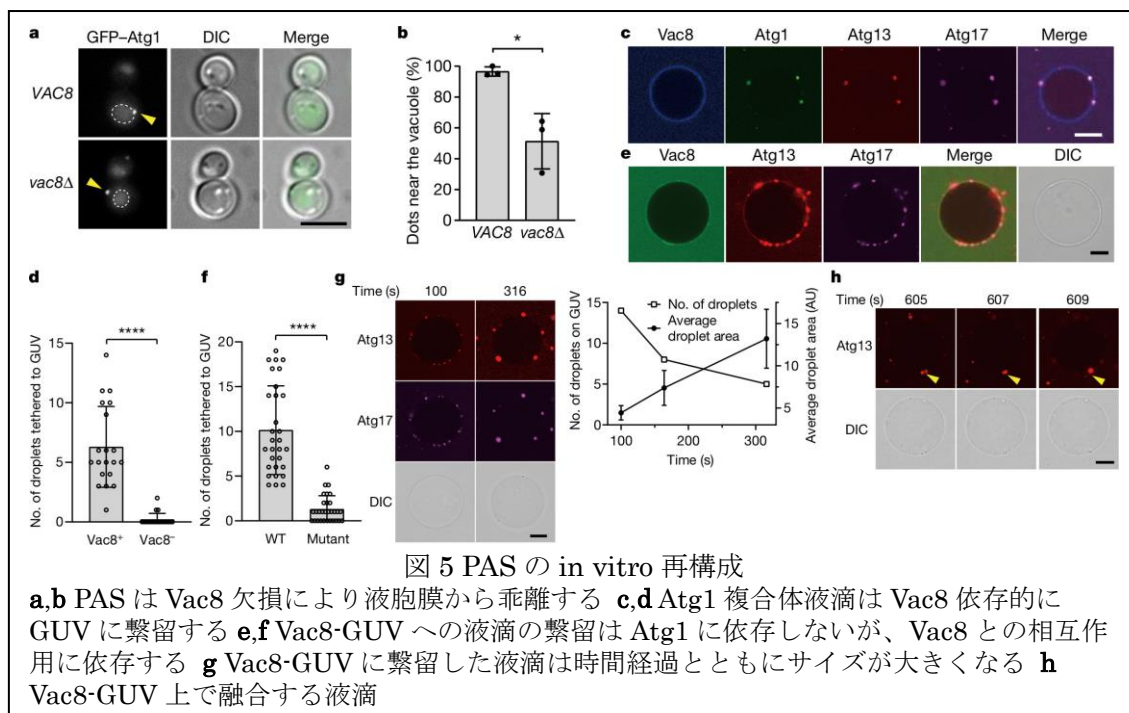


図 5 PAS の *in vitro* 再構成

**a, b** PAS は Vac8 欠損により液胞膜から乖離する **c, d** Atg1 複合体液滴は Vac8 依存的に GUV に繫留する **e, f** Vac8-GUV への液滴の繫留は Atg1 に依存しないが、Vac8 との相互作用に依存する **g** Vac8-GUV に繫留した液滴は時間経過とともにサイズが大きくなる **h** Vac8-GUV 上で融合する液滴



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計18件（うち査読付論文 15件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Noda Nobuo N.	4. 巻 1866
2. 論文標題 Atg2 and Atg9: Intermembrane and interleaflet lipid transporters driving autophagy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids	6. 最初と最後の頁 158956 ~ 158956
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbaliip.2021.158956	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Matoba Kazuaki, Noda Nobuo N	4. 巻 -
2. 論文標題 Structural catalog of core Atg proteins opens new era of autophagy research	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvab017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Fujioka Yuko, Noda Nobuo N.	4. 巻 69
2. 論文標題 Biomolecular condensates in autophagy regulation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Current Opinion in Cell Biology	6. 最初と最後の頁 23 ~ 29
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ceb.2020.12.011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Matoba Kazuaki, Noda Nobuo N.	4. 巻 27
2. 論文標題 Secret of Atg9: lipid scramblase activity drives de novo autophagosome biogenesis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Death & Differentiation	6. 最初と最後の頁 3386 ~ 3388
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41418-020-00663-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matoba Kazuaki, Kotani Tetsuya, Tsutsumi Akihisa, Tsuji Takuma, Mori Takaharu, Noshiro Daisuke, Sugita Yuji, Nomura Norimichi, Iwata So, Ohsumi Yoshinori, Fujimoto Toyoshi, Nakatogawa Hitoshi, Kikkawa Masahide, Noda Nobuo N.	4. 巻 27
2. 論文標題 Atg9 is a lipid scramblase that mediates autophagosomal membrane expansion	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Structural & Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 1185 ~ 1193
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41594-020-00518-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Alam Jahangir Md., Noda Nobuo N.	4. 巻 48
2. 論文標題 In vitro reconstitution of autophagic processes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical Society Transactions	6. 最初と最後の頁 2003 ~ 2014
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1042/BST20200130	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Noda Nobuo N., Wang Zheng, Zhang Hong	4. 巻 219
2. 論文標題 Liquid-liquid phase separation in autophagy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Cell Biology	6. 最初と最後の頁 e202004062
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1083/jcb.202004062	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Fujioka Yuko, Alam Jahangir Md., Noshiro Daisuke, Mouri Kazunari, Ando Toshio, Okada Yasushi, May Alexander I., Knorr Roland L., Suzuki Kuninori, Ohsumi Yoshinori, Noda Nobuo N.	4. 巻 578
2. 論文標題 Phase separation organizes the site of autophagosome formation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 301 ~ 305
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41586-020-1977-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yamasaki Akinori, Alam Jahangir Md., Noshiro Daisuke, Hirata Eri, Fujioka Yuko, Suzuki Kuninori, Ohsumi Yoshinori, Noda Nobuo N.	4. 巻 77
2. 論文標題 Liquidity Is a Critical Determinant for Selective Autophagy of Protein Condensates	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Cell	6. 最初と最後の頁 1163 ~ 1175.e9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.molcel.2019.12.026	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Osawa Takuo, Ishii Yuki, Noda Nobuo N.	4. 巻 25
2. 論文標題 Human ATG2B possesses a lipid transfer activity which is accelerated by negatively charged lipids and WIPI4	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 65 ~ 70
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12733	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 藤岡優子、野田展生	4. 巻 38
2. 論文標題 液 - 液相分離によるオートファゴソームの形成部位の構築	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 1354-1357
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 FUJIOKA Yuko, NODA Nobuo N.	4. 巻 60
2. 論文標題 Formation of Autophagy Initiation Complex Mediated by an Intrinsically Disordered Protein	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Seibutsu Butsuri	6. 最初と最後の頁 171 ~ 173
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophys.60.171	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -



1. 著者名 能代大輔、野田展生	4. 巻 38
2. 論文標題 柔らかい構造の可視化 - LLPSと膜動態を例に	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 84-89
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 野田展生	4. 巻 272
2. 論文標題 選択的オートファジーの構造生物学的基盤	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 769-775
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Osawa T, Noda NN	4. 巻 28
2. 論文標題 Atg2: A novel phospholipid transfer protein that mediates de novo autophagosome biogenesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Protein Science	6. 最初と最後の頁 1005-1012
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/pro.3623	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Osawa T, Kotani T, Kawaoka T, Hirata E, Suzuki K, Nakatogawa H, Ohsumi Y, Noda NN	4. 巻 26
2. 論文標題 Atg2 mediates direct lipid transfer between membranes for autophagosome formation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Structural & Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 281-288
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41594-019-0203-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Liu XM, Yamasaki A, Du XM, Coffman VC, Ohsumi Y, Nakatogawa H, Wu JQ, Noda NN, Du LL	4. 巻 7
2. 論文標題 Lipidation-independent vacuolar functions of Atg8 rely on its noncanonical interaction with a vacuole membrane protein	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e41237
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.41237	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Osawa T, Alam JM, Noda NN	4. 巻 218
2. 論文標題 Membrane-binding domains in autophagy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemistry and Physics of Lipids	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chemphyslip.2018.11.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計15件 (うち招待講演 11件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 野田展生
2. 発表標題 多様な構造生物学を駆使したオートファジー研究
3. 学会等名 基礎から学ぶ最新NMR 解析法 第2回ワークショップ (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nobuo N. Noda
2. 発表標題 Autophagy regulation by liquid-liquid phase separation
3. 学会等名 4th NanoLSI Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野田展生
2. 発表標題 液 - 液相分離によるオートファジーの始動制御
3. 学会等名 第72回 日本細胞生物学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野田展生
2. 発表標題 相分離したタンパク質の選択的オートファジーの試験管内再構成
3. 学会等名 第19回蛋白質科学会年会・第71回日本細胞生物学会大会 合同年次大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野田展生
2. 発表標題 液 - 液相分離とオートファジー
3. 学会等名 第3回LLPS研究会/大阪大学蛋白質研究所セミナー (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野田展生
2. 発表標題 液 - 液相分離によるオートファジーの始動制御
3. 学会等名 第92回 日本生化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nobuo N. Noda
2. 発表標題 Mechanisms of autophagosomal membrane expansion and shaping
3. 学会等名 9th International Symposium on Autophagy (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野田展生
2. 発表標題 オートファジー関連液滴と脂質膜の相互作用基盤
3. 学会等名 第42回 日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nobuo N. Noda
2. 発表標題 Molecular mechanisms of initial steps of autophagy
3. 学会等名 The 24th IUBMB Congress&15th FAOBMB Congress (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 野田 展生
2. 発表標題 再構成生物学から迫るオートファジーの分子機構
3. 学会等名 第29回新薬創製談話会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 野田 展生
2. 発表標題 液-液相分離したタンパク質の選択的オートファジーの分子機構
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 能代大輔、藤岡優子、野田展生、安藤敏夫
2. 発表標題 オートファジーの足場タンパク質Atg17-Atg29-Atg31複合体の高速AFM観察
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 野田 展生
2. 発表標題 PASは液 - 液相分離で形成される非膜型オルガネラの一つである
3. 学会等名 第11回オートファジー研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 能代大輔、藤岡優子、安藤敏夫、野田展生
2. 発表標題 高速AFMによるAtg17-Atg29-Atg31のS字構造とAtg13-Atg17-Atg29-Atg31複合体により形成される液滴の観察
3. 学会等名 第11回オートファジー研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤岡 優子, Jahangir Md. Alam, 野田 展生
2. 発表標題 オートファゴソーム形成場 PASの液-液相分離を介した構築原理
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<a href="https://www.bikaken.or.jp/">https://www.bikaken.or.jp/</a>
---

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	藤岡 優子  (Fujioka Yuko)		
研究協力者	能代 大輔  (Noshiro Daisuke)		
研究協力者	アラム ジャハングル  (Alam Jahangir)		

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	的場 一晃  (Matoba Kazuaki)		
研究協力者	石井 佑季  (Ishii Yuki)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関